

# **APOLIPOPROTEIINIEN JA LIPIDIPARAMETRIEN VAIKUTUS KAULAVALTIMOKIRURGISTEN POTILAIEN ENNUSTEESEEN**

Pengermä Pasi

Syventävien opintojen opinnäyte

Tampereen yliopisto

Lääketieteen yksikkö

Dosentti Oksalan tutkimusryhmä

Huhtikuu 2014

---

Tampereen yliopisto  
Lääketieteen yksikkö  
Dosentti Oksalan tutkimusryhmä

## PENGERMÄ PASI: APOLIPOPROTEIINIEN JA LIPIDIPARAMETRIEN VAIKUTUS KAULAVALTIMOKIRURGISTEN POTILAIEN ENNUSTEESEEN

Kirjallinen työ, 26 s.

Ohjaaja: Dosentti, LT, FT, Verisuonikirurgian erikoislääkäri Niku Oksala

Huhtikuu 2014

Lyhenteet: EFW=Extended Friedewald, LCAT=lesitiini-kolesteroli-asyylitransferaasi, SAA=seerumin amyloidi A proteiini, IMT=sisäkalvo-mediapaksuus, NAFLD=ei-alkoholiperäinen rasvamaksa, CAD=sepelvaltimotauti, COPD=keuhkohtaumatauti, ASO=arteriosclerosis obliterans, PAD=ääreisvaltimosairaus, HR=vaarasuhde, OR=odds ratio, IRR=incident rate ratio, SD=keskihajonta, TC=kokonaiskolesteroli, TG=triglyseridi, NRI=net reclassification improvement

Avainsanat: Apolipoproteiinit, verisuoni, kirurgia, laskennalliset menetelmät, extended, friedewald, kuolleisuus, neuroverkot

---

Tämä kaulavaltimokirurgisilla potilailla tehty syventävä työ on osa laajempaa verisuonikirurgisilla potilailla toteutettua tutkimusta. Kaulavaltimokirurgisten potilaiden osalta olen vastannut kirjallisuuden hausta, aineiston analysoimisesta sekä tämän kirjallisen työn kirjoittamisesta.

Apolipoproteiinien ennustevaikutusta verisuonikirurgisilla potilailla ei ole toistaiseksi tutkittu. Verisuonikirurgian ja yleensäkin lääketieteen tavoitteena on potilaan hoidosta saama hyöty. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää perinteisten lipidiparametrien ja ns. extended Friedewald (EFW)-kaavalla laskettujen lipidiparametrien ja apolipoproteiinien mahdollisia yhteyksiä kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymiseen ja uusintatoimenpiteiden ilmaantuvuuteen seurannan aikana. Tarkoituksena oli myös tutkia, voidaanko lipidiparametreja hyödyntäen tunnistaa ne potilaat, joille toimenpiteestä aiheutuu enemmän haittaa kuin hyötyä.

Aineistomme koostui 580 peräkkäisestä Tampereen yliopistollisen sairaalan verisuonikirurgian potilasrekisterin kaulavaltimokirurgisesta potilaasta. Seuranta-aika oli 2002–2012. Lipidiarvot haettiin Laboratoriokeskus Oy:n tietokannasta. Näistä laskettiin EFW-kaavaa hyödyntävät uudet lipidiparametrit. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin ulkopuolella asuvat potilaat, joiden kuolinaika ei ollut tiedossa, poissuljettiin tutkimuksesta, koska tietoja heidän selviytymisestä ei ollut käytettävissä. Lipidiarvojen mittaushetken ja toimenpiteen välinen aika rajattiin 183 vuorokauteen. Mikäli nämä ehdot eivät täyttyneet tai jos potilaan mitattuja lipidiarvoja ei ollut käytettävissä, potilas rajattiin tutkimuksen ulkopuolelle. Tässä syventävässä työssä keskitytään sisemmän kaulavaltimon puhdistusleikkaukseen tuleviin potilaisiin. Aineiston rajaamisen jälkeen jäi jäljelle 442 potilasta.

Lipidimuuttujat standardoitiin keskiarvon ja hajonnan suhteen. Kullekin päätetapahtumalle muodostettiin kolme eri vakiointimallia, joissa analyysit suoritettiin. Vakioinnilla tutkittiin lipidiparametrien muista tekijöistä riippumattomia, eli itsenäisiä yhteyksiä päätetapahtumiin. Lipidiparametrien yhteyksiä potilaiden selviytymiseen analysoitiin Coxin

regressiomallilla. Yhteyksiä uusintatoimenpiteiden ilmaantuvuuteen analysoitiin logistisella regressiolla. Vastaavasti yhteyksiä uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään seurannan aikana analysoitiin modifioidulla Poisson-regressiolla.

Analysoitaessa lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteyksiä kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymiseen, EFW-VLDL-TG osoittautui parhaimmaksi kuolemaa ennustavaksi lipidiparametriksi. Vaarasuhde (HR) vaihteli vakiointimallista riippuen välillä 1.273–1.354. Myös triglyseridi toimi lähestulkoon yhtä hyvänä ennustajana. Sen HR vaihteli välillä 1.267–1.350. Tulokset olivat tilastollisesti merkitseviä ja muista tekijöistä riippumattomia. Analysoitaessa lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteyksiä uusintatoimenpiteisiin ja uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään, emme juuri saaneet tilastollisesti merkitseviä tuloksia ja tulosten kliininen merkitys osoittautui vähäiseksi.

EFW-VLDL-TG osoittautui parhaaksi tekijäksi arvioitaessa kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymistä. Sen hyödyntäminen kliinisessä työssä ei aiheuta lisäkustannuksia. Jotta soveltaminen kliniseen työhön onnistuisi, parametreille tulee jatkossa määrittää optimaaliset, potilaita eniten hyödyttävät, raja-arvot.

# SISÄLLYS

1. JOHDANTO .....	5
2. TEORIAA LIPIDEISTÄ JA AIEMMAT TUTKIMUKSET .....	7
2.1. Lipiditeoriaa .....	7
2.1.1. Lipidikuljetuksen eksogeeninen tie .....	7
2.1.2. Lipidikuljetuksen endogeeninen tie .....	8
2.2. Perinteiset lipidimuuttajat .....	8
2.3. Uudemmat lipidimuuttajat ja apolipoproteiinit .....	10
2.4. Laskennalliset menetelmät .....	12
3. AINEISTO JA MENETELMÄT .....	13
3.1. Aineisto .....	13
3.2. Seuranta-aika .....	13
3.3. Muut määritelmät .....	14
3.4. Laboratoriokokeet ja lipoproteiinikonsentraatioiden arviointi .....	14
3.5. Tilastollinen analyysi .....	15
4. TULOKSET .....	16
4.1. Kaulavaltimokirurgisten potilaiden ominaispiirteet .....	16
4.2. Apolipoproteiinien ja lipidiparametrien yhteys potilaiden selviytymiseen ...	17
4.3. Apolipoproteiinien ja lipidiparametrien vaikutukset uusintatoimenpiteisiin ja niiden absoluuttiseen määrään .....	18
5. POHDINTA .....	20
LÄHTEET .....	22

# 1. JOHDANTO

Tämä kaulavaltimokirurgisilla potilailla tehty syventävä työ on osa laajempaa verisuonikirurgisilla potilailla toteutettua tutkimusta. Kaulavaltimokirurgisten potilaiden osalta olen vastannut kirjallisuuden hausta, aineiston analysoimisesta sekä tämän kirjallisen työn kirjoittamisesta.

Verisuonikirurgisten potilaiden kajoaviin toimenpiteisiin liittyy huomattava komplikaatoriski. Tämä on tärkeä huomioida riskialttiiden toimenpiteiden potilasvalinnassa. Potilaan saaman hyödyn maksimoimiseksi toimenpiteen aiheuttamat haitat ja hyödyt tulee harkita tarkkaan ja tarvittaessa pidättäytyä leikkauksesta. Potilaan leikkauksesta saama hyöty riippuu suurelta osin toimenpiteen jälkeisestä elinajasta.

Lipidiparametreista LDL-C:n on todettu toimivan hyvänä sepelvaltimoiden ateroskleroosin etenemistä ennustavana tekijänä (1,2). ApoB:n ja apoB:n ja apoA-1:n suhteen on havaittu toimivan perinteisiä lipidiparametreja paremmin sydän- ja verisuonisairauksien riskin arvioinnissa (3-6).

Apolioproteiinien ennustevaikutusta ei ole tutkittu kaulavaltimokirurgisilla potilailla. Myöskään parametreja, joilla voidaan arvioida uusintatoimenpiteiden ilmaantuvuutta, ei ole tutkittu. Nykyään sydän- ja verisuonisairauksien riskiä arvioidaan erilaisilla pisteytyksillä (FINRISKI, SCORE, FRAMINGHAM).

Tässä tutkimuksessa hyödynsimme Tampereen yliopistollisen sairaalan verisuonikirurgian potilasrekisterin tietoja. Analysoimme perinteisten lipidiparametrien ja EFW-kaavalla laskettujen lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteyksiä kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymiseen, uusintatoimenpiteiden ilmaantuvuuteen ja uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään seuranta-aikana. Tarkoituksena oli myös tutkia, voidaanko

lipidiparametreja hyödyntäen löytää ne potilaat, joille toimenpiteestä aiheutuu enemmän haittaa kuin hyötyä. Pyrimme siten lisäksi tutkimaan, onko olemassa jokin EFW-parametrin raja-arvo, jonka ylittyessä kuolleisuus tai uusintatoimenpiteiden ilmaantuvuus kohoaa jyrkästi. Hypotesimme oli, että EFW-parametreja voidaan hyödyntää ennustettaessa kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymistä ja uusintatoimenpiteiden todennäköisyyttä.

## 2. TEORIAA LIPIDEISTÄ JA AIEMMAT TUTKIMUKSET

### 2.1. Lipiditeoriaa

Lipidit ovat rasvaliukoisia. Siksi ne kuljetetaan plasmassa proteiineihin sitoutuneina, lipoproteiineina. Lipoproteiinit jaetaan viiteen pääkategoriaan tiheyden mukaan. Tiheydeltään matalin on kylomikroni ja korkein HDL. Tiheydeltään korkein sisältää eniten proteiinia. Muut lipoproteiinit ovat nimeltään VLDL, IDL, LDL. Apolipoproteiinit sijaitsevat lipoproteiinien pinnalla. Lisäksi lipoproteiinin pinnalla on vapaita kolesterolipartikkeleja. Kuori muodostuu fosfolipideistä. Triglyseridit sijaitsevat lipoproteiinin ytimessä edellä mainittujen rakenteiden verhoamina. Kylomikroni kuljettaa suolistosta triglyserideja kudoksiin. Sen apolipoproteiineja ovat esimerkiksi A-1 ja B-48. VLDL muodostetaan maksassa. Se kuljettaa maksassa valmistettuja triglyserideja kudoksiin. Sen hajoamistuotteina syntyvät IDL ja edelleen VLDL. Kolmessa viimeksi mainitussa apolipoproteiina toimii esimerkiksi B-100. HDL muodostetaan maksassa ja suolistossa. Se kuljettaa kolesterolia kudoksista maksaan. (7)

#### 2.1.1. Lipidikuljetuksen eksogeeninen tie

Elimistöllä on kaksi tapaa hankkia lipidejä, joko eksogeenista tai endogeenista tietä pitkin. Kylomikronit valmistetaan suoliston limakalvon soluissa. Niihin pakataan ruuan sisältämä rasva triglyseridin muodossa. Lisäksi niiden pinnalla on B-48-apolipoproteiineja. Suolistosta ne lähtevät lymfaattiseen järjestelmään ja kulkeutuvat rintatiehyen kautta verenkiertoon. Vereen päästyään niihin liittyvät apolipoproteiinit C-II ja E. Nämä saadaan HDL:ltä. Kylomikronit kulkeutuvat kudoksiin. Kapillaareissa C-II aktivoi endoteelin lipoproteiinilipaasin. Se hydrolysoi triglyseridit glyseroliksi ja vapaiksi rasvahapoiksi. Vapaat rasvahapot kulkeutuvat soluun, jossa ne joko hapetetaan tai muutetaan uudelleen triglyseridiksi. Jäljelle jäävästä kylomikronista C-II palautetaan takaisin HDL:lle. Maksan

reseptorit tunnistavat B-48- ja E-apolipoproteiinit. Näin kylomikronin jäännös kulkeutuu maksaan, jossa se hajotetaan. (7)

### **2.1.2. Lipidikuljetuksen endogeeninen tie**

VLDL valmistetaan maksassa. Se koostuu suurelta osin triglyserideista. Verenkiertoon kulkeutuessaan VLDL sisältää apolipoproteiinin B-100. Lisäksi, kuten eksogeenisessä tiessä, C-II ja E hankitaan HDL:ltä. Kapillaarien endoteelin lipoproteiinilipaasi hydrolysoi triglyseridit. Lisäksi vapautunut kolesteroli inhiboi HMG-CoA-reduktaasia ja siten vähentää maksan kolesterolisynteesiä. Osa VLDL:n triglyserideista, fosfolipideista ja C-II:sta siirtyvät HDL:ään kolesteroliesteritransferaasin välityksellä. Näin VLDL muuntuu tiheämmäksi IDL:ksi. Kolesteroliesteritransferaasi siirtää lisäksi HDL:stä IDL:ään kolesteroliestereitä. Osa IDL:stä otetaan maksaan ja loput muodostavat LDL-lipoproteiineja. Perifeerisissä kudoksissa LDL sitoutuu LDL-reseptoriin, joka tunnistaa LDL:n B-100-apolipoproteiinin. Tapahtuu reseptorivälitteinen endosytoosi ja LDL kulkeutuu solun sisälle. Lysosomaaliset entsyymit hydrolysoivat sen ja soluun vapautuu vapaata kolesterolia. (7)

HDL valmistetaan maksassa. Sillä on kaksi päätehtävää. Se muodostaa perifeerisiltä kudoksilta saamastaan vapaasta kolesterolistä kolesteroliestereitä lesitiini-kolesteroli-asyylitransferaasin (LCAT) avulla. Kolesteroliesterit luovutetaan VLDL:lle tai IDL:lle LDL:n muodostamiseksi. Toinen vaihtoehto on kuljettaa ne maksaan. HDL vaihtaa myös apolipoproteiineja kylomikronien ja VLDL:n kanssa. (7)

## **2.2. Perinteiset lipidimuuttajat**

Perinteisesti LDL:ää on pidetty tärkeimpänä aterogeenisenä lipoproteiinina. Sitä on hyödynnetty niin kliinisessä työssä kuin epidemiologisissa tutkimuksissa. (8) LDL-C:n yhteys sydän- ja verisuonitapahtumiin ja kuolleisuuteen on kuitenkin havaittu heikoksi (1,2,8). Lisäksi vaikka monilla potilailla LDL-C:n tavoitearvo on jo saavutettu, silti heillä on huomattava sydän- ja verisuonitapahtumien riski (9,10). Sille että LDL-C:n yhteys sydän-



ja verisuonitapahtumiin ei olekaan oletetun vahva, on etsitty useita erilaisia selityksiä. On todettu, että LDL-C:n konsentraatio vaihtelee suuresti yksilöiden välillä, vaikka LDL-C-partikkelien koot olisivat toisiaan vastaavia (11,12). Lisäksi LDL-C-partikkelin sisältävän triglyseridin ja kolesterolin suhteelliset määrät vaihtelevat suuresti yksilöiden välillä (13). LDL-C ei täten anna tarkkaa kuvaa lihavuuden tai tyypin kaksi diabeteksen aiheuttamista muutoksista (14). Sen kliinisessä tulkinnassa tulee siis olla varovainen ja ottaa edellä mainitut asiat huomioon. Mitatun LDL-C:n kliinistä käyttökelpoisuutta onkin kyseenalaistettu (15). Monissa tutkimuksissa pyritäänkin nyt löytämään kliiniseen käyttöön sovellettavia LDL-C:n korvaavia, parempia merkkiaineita.

IDL-C:n on puolestaan havaittu ennustavan sepelvaltimoiden ja kaulavaltimoiden ateroskleroosin progressiota (1,2). Tästä huolimatta IDL-C ei vielä ole kliinisessä käytössä.

Korkea HDL-C puolestaan vähentää verisuonikomplikaatioiden riskiä, eli se on antiaterogeeninen lipoproteiini (16,17). HDL2-C on vielä vähemmän aterogeeninen kuin HDL-C tai HDL3-C. Se suojaa parhaiten sydän- ja verisuonitapahtumilta ja kuolleisuudelta. (18) On kuitenkin myös tuloksia, että suuri HDL3-C voisi olla yhteydessä normaalia vaikeampaan sepelvaltimotautiin (19,20). Onkin tärkeämpää analysoida kaikkia HDL-alaryhmiä kokonaisuutena (18). HDL-C:n koostumuksen muutos on viimeaikaisten tutkimusten mukaan yksi sepelvaltimotaudin kehittymiselle altistava tekijä. Sepelvaltimotautipotilaiden apoA-1-konsentraatio on alhaisempi ja seerumin amyloidi A proteiinin (SAA) konsentraatio on suurempi verrattuna terveeseen väestöön. Molemmat ovat HDL-C:n proteiineja. Mainitut konsentraatiomuutokset muuntavat HDL-C:tä aterogeenisempaan suuntaan. log SAA:n ja apoA-1:n välillä on lisäksi havaittu positiivinen korrelaatio sepelvaltimotautipotilailla. Suoraan verrannollisuus on tosin arveltu rajalliseksi ilmiöksi. Sen on ajateltu selittyvän elimistön kompensatiomekanismilla. SAA:n noustessa apoA-1 nousee, jotta aterogeenisuus ei voimistuisi. (21,22) SAA on lisäksi akuutin vaiheen proteiini. Kuten CRP, sekin syntetisoidaan maksassa. Sen pitoisuus nousee vasteena infektiolle, inflammaatiolle, vammalle, stressille. Sen tärkein kantaja on juuri HDL-C. (23,24)

## 2.3. Uudemmat lipidimuuttajat ja apolipoproteiinit

Kirjallisuudessa on yhä enemmän todisteita, että apolipoproteiinit olisivat perinteisiä lipidimuuttajia parempia ateroskleroosin merkkiaineita. ApoB:n ja apoB:n ja apoA-1:n suhteen on todettu assosioivan perinteisiä lipidiparametreja paremmin sisemmän kaulavaltimon sisäkalvo-mediapaksuuteen (IMT), jota pidetään subkliinisen ateroskleroosin merkinä ja sydän- ja verisuonisairauksien sairauksien riskitekijänä. Apolipoproteiineja hyödyntämällä olisi siis mahdollista parantaa verisuonikomplikaatioiden riskinarviointia. (3,25-28) ApoB on pääproteiini LDL-partikkeleissa. Se kuvastaa kolesterolin kuljetusta valtimoiden seinämään. Niinpä se on parempi merkkiaine sydän- ja verisuonisairauksien riskin arvioinnissa kuin perinteiset LDL-C tai non-HDL-C. (3-6) The Joint European Society of Cardiology (ESC) suosittelee apoB:n käyttöä ensisijaisena merkkiaineena. Jos apoB ei ole saatavilla, tulisi käyttää non-HDL-C:tä. (29) Viime aikoina on kuitenkin esitetty argumentteja puolesta ja vastaan, kumpi on soveltuvampi merkkiaine arvioitaessa sydän- ja verisuonisairauksien riskiä, apoB vai non-HDL-C. Eräässä tutkimuksessa niiden todettiin olevan lähestulkoon toisiaan vastaavia tässä tehtävässä. (30)

Erityisesti apoB-48:n on havaittu korreloivan vahvasti sepelvaltimotaudin esiintyvyyteen (31). On esitetty, että apoB-48 olisi kokonais-apoB:tä vahvempi sisemmän kaulavaltimon IMT:n kasvamisen ja sydän- ja verisuonisairauksien sairauksien ennustaja (32). Ateroskleroottisia plakkeja tutkittaessa niiden on havaittu sisältävän enemmän apoB-48:aa kuin apoB-100:aa (33-35). Lisäksi apoB-100 ei ole perinteisiä lipidimuuttajia parempi sydän- ja verisuonisairauksien merkkiaine (36,37). Niinpä onkin arveltu, että kokonais-apoB on yhteydessä sydäninfarktirisikin kanssa nimenomaan apoB-48:n vaikutuksesta (3,25,32). Toisaalta myös apoB-100:lla on todennäköisesti tärkeä merkitys aterogeneesissä. Amisheilla tehdyssä tutkimuksessa apoB-100:aa koodittavan geenin mutaatio nosti LDL-C:n konsentraatiota verrattuna mutaatiovapaaseen väestöön ja oli yhteydessä voimakkaasti sepelvaltimoiden kalkkeutumiseen (38). Sepelvaltimotautipotilailla, lihavuudesta kärsivillä, tyypin kaksi diabeetikoilla ja potilailla, joilla on perinnällinen kombinoitunut hyperlipidemia, kylomikronien tuotto on normaalia tehokkaampaa ja ruokailun jälkeinen kylomikronien jäänteiden poistuminen on hidastunut verrattuna terveeseen väestöön (32,39-42). ApoB-48 kuvastaa näitä kylomikronijäänteitä

ja sillä on siten yhteyksiä näihin sairauksiin (32). Erityisesti insuliiniresistenssiin liittyy lihavuus ja myös siihen on yhdistetty sekä apoB-48:aa sisältävien lipoproteiinien kasvanut tuotto että hidastunut poistumisnopeus (43,44). ApoB-48:lla on myös yhteys sisemmän kaulavaltimon IMT:n kasvamiseen. Onkin arveltu, että ateroskleroosin ja IMT:n kasvaminen liittyy vahvemmin suoliston (apoB-48) kuin maksan lipoproteiineihin (apoB-100). (32)

Erityisesti lapsilla lihavuus on dramaattisesti lisääntynyt maailmanlaajuisesti viimeisten 25 vuoden aikana (45). Lihavuus lapsena altistaa sisemmän kaulavaltimon IMT:n suurenemiselle aikuisena (46). Kuten edellä on todettu, tämä puolestaan altistaa sepelvaltimotaudille. Lihavilla lapsilla LDL-C:n ja kokonaiskolesterolin on todettu olevan herkkyydeltään melko heikkoja ja soveltuvan aikuisia heikommin käytettäväksi sydän- ja verisuonisairauksien merkkiaineina (47,48). ApoB-48 on puolestaan osoittautunut perinteisiä lipidejä paremmaksi merkkiaineeksi arvioitaessa sydän- ja verisuonisairauksien riskiä erityisesti lihavilla lapsilla. Perinteiset lipidit voivat pysyä viiterajoissa apoB-48:n jo reagoidessa. (49)

ApoA-1 on puolestaan pääproteiini HDL-partikkeleissa. Sillä on tärkeä merkitys ylimääräisen kolesterolin poistossa ja kuljetuksessa takaisin maksaan. (50,51) Se siis estää ateroskleroosin kehittymistä ja on yhteydessä myös sisemmän kaulavaltimon IMT:n kasvamiseen kääntäen verrannollisesti (28,52).

ApoB:a ja ApoB:n ja ApoA-1:n suhdetta on esitetty käytettävän tarkimman riskinarvion mahdollistamiseksi (4). ApoB:n ja ApoA-1:n suhdetta voidaan käyttää sydän- ja verisuonisairauksien riskin arvioinnissa ja sen on osoitettu olevan muita kolesteroliparametreja parempi äkillisen sydäninfarktin riskin arvioinnissa (27). ApoB, apoB:n ja apoA-1:n suhde ja IDL-C ovat myös perinteisiä, Friedewald-kaavalla laskettuja, arvoja parempia kuolleisuuden ennustajia tyyppin 1 diabeetikoilla (53).

Ei-alkoholiperäinen rasvamaksa (NAFLD) on maailmanlaajuisesti yleisin maksasairaus, joka voi edetä kirroosiksi asti. Sen on todettu olevan itsenäinen sydän- ja

verisuonisairauksien riskitekijä, osittain häiriintyneen apolipoproteiiniaineenvaihdunnan vuoksi. ApoB:n ja apoA-1:n suhteella on muita lipidimuuttujia parempi yhteys ei-alkoholiperäisen rasvamaksan kehittymiseen. Onkin ajateltu, että NAFLD voisi tarjota lisää tietoa sydän- ja verisuonisairauksien riskeistä. (54,55)

Nykyään tunnetaan myös erittäin harvinainen Andersonin tauti, toiselta nimeltään kylomikroniretentiotauti. Se on autosomaalisesti ja resessiivisesti periytyvä suoliston häiriö, jossa ravinnon lipidien kuljetus suoletta eteenpäin kylomikroneina häiriintyy. Tästä seuraa hypokolesterolemia ja lipidien imeytymishäiriö, josta aiheutuu myös rasvaripuli. Tällöin apoB-48-lipoproteiineja, kylomikroneja ei ole. ApoB-100-, apoA-1-lipoproteiineja ja HDL-C:tä on vähäisiä määriä. Muutaatio on paikallistettu SAR1B-proteiinia koodittavaan samannimiseen geeniin. SAR1B:llä on merkittävä rooli kylomikronien kuljetuksessa suolen seinämästä verenkiertoon. Proteiinin ollessa viallinen kylomikronit kertyvät enterosyytteihin. Lipoproteiinien apoB-100 ja apoA-1 tuotantonopeus on myös tervettä väestöä hitaampi. (56)

## **2.4. Laskennalliset menetelmät**

Laskettaessa LDL-C perinteistä Friedewald-kaavaa hyödyntäen tarvitaan rasva-arvojen pitoisuudet, triglyseridi, kokonaiskolesteroli ja HDL-C (57). Kaava on kuitenkin validi vain triglyseridin ollessa pienempi tai yhtäsuuri kuin 4.52 mmol/l (58). Näin saatu LDL-C ei ole myöskään puhdas arvo, vaan sisältää myös IDL-C:n pitoisuuden (58).

Uusi EFW-kaava perustuu keinotekoisien neuroverkkojen avulla kehitettyihin algoritmeihin, ja sitä käyttäen saadaan ilman työlästä ultrasentrifugointia arviot lipidiarvojen konsentraatioista, apoB; apoA-1; VLDL-TG; IDL-C; LDL-C ja HDL2-C (53). EFW-kaava on vapaasti käytettävissä (<http://www.computationalmedicine.fi/software/Lipido>) ja sen käyttö vaatii samat mitatut arvot kuin Friedewald-kaavankin käyttö (53). Se ei siten edellytä useampia verikoetuloksia verrattuna Friedewald-kaavaan. On kuitenkin huomioitava, että EFW-kaavalla saatu LDL-C on puhdas arvo, eikä sisällä IDL-C:tä (58).

### **3. AINEISTO JA MENETELMÄT**

#### **3.1. Aineisto**

Aineistomme koostui 5853 Tampereen yliopistollisen sairaalan verisuonikirurgian potilasrekisterin potilaasta. Kaulavaltimokirurgisia potilaita oli 580. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin alueella asuvien potilaiden potilastiedot olivat käytettävissä. Sairaanhoitopiirin ulkopuolella asuvat potilaat, joiden kuolinaika ei ollut tiedossa, poissuljettiin tutkimuksesta, koska kyseisten potilaiden selviytyminen oli epäselvää.

Lipidiarvot haettiin Laboratoriokeskus Oy:n tietokannasta. Näistä laskettiin EFW-kaavaa hyödyntävät lipidiparametrit. Lipidiarvojen mittaushetken ja toimenpiteen välinen absoluuttinen aika rajattiin 183 vuorokauteen, jotta tästä aiheutuva mahdollinen virhe minimoitaisiin, mutta samalla maksimoitiin tutkimuksen aineiston koko. Ajan ollessa pidempi potilas rajattiin tutkimuksen ulkopuolelle. Lisäksi kaikista aineiston potilaista ei ollut saatavissa verikoenäytteestä mitattuja lipidiparametreja. Myös tässä tapauksessa potilas poissuljettiin tutkimuksesta.

Lopullinen aineisto, jossa analyysit suoritettiin, koostui 3024 potilaasta. Tässä syventävässä työssä keskitytään vain kaulavaltimokirurgiaan. Tulokset ja niiden tulkinta esitetään vain tämän ryhmän osalta. Tähän ryhmään aineiston rajauksen jälkeen jäi jäljelle 442 potilasta.

#### **3.2. Seuranta-aika**

Seuranta-aika määriteltiin potilaan kuolinajan tai tutkimuksen päättymisajankohdan, 12.1.2012, ja toimenpidepäivämäärän erotukseksi. Ajan yksikkönä käytettiin kuukausia.

Kuolinajat haettiin potilaskertomusrekisteristä. Seuranta-ajan keskiarvo kaulavaltimokirurgisilla potilailla oli  $48,4 \pm 29,0$  kuukautta. 442 potilaasta 90 (20,4 %) kuoli seuranta-ajan kuluessa. Seuranta-aika oli 2002–2012.

### 3.3. Muut määritelmät

Tiedot potilaiden sydän- ja verisuonisairauksien riskitekijöistä saatiin verisuonikirurgian potilasrekisteristä. Riskitekijät määriteltiin asetettujen diagnoosien ja käytössä olevan lääkityksen perusteella. Potilaalla oli diabetes, jos hänelle oli asetettu diagnoosi tai hän käytti säännöllistä insuliinia tai suun kautta otettavaa diabeteslääkitystä. Hypertensio puolestaan edellytti diagnoosia tai antihypertensiivisen lääkityksen säännöllistä käyttöä. Tupakointi tarkoitti tupakointia viiden vuoden kuluessa tai aktiivista tupakointia. Hyperkolesterolemian määritelmä edellytti joko diagnoosia tai kolesterolilääkityksen käyttöä. Sydänperäinen riski määriteltiin sairastetun myokardiaalisen infarktin, tehdyn toimenpiteen, tiedossa olevan angina pectoris-oireiston tai EKG:ssä ilmenneiden iskeemisten muutosten perusteella. Taulukko 1:ssä CAD tarkoittaa sydänperäistä riskitekijää. Keuhkoperäinen riski puolestaan tarkoitti COPD-diagnoosia. Munuaisperäinen riskitekijä edellytti munuaisten vajaatoiminnan diagnoosia. ASO-tauti merkitsi joko diagnoosia tai tehtyä toimenpidettä tai amputaatiota. Taulukko 1:een laitoimme myös käsitteen ääreisvaltimosairaus (PAD, peripheral arterial disease). Tämä edellytti joko klaudikaatiota, kriittistä tai akuuttia iskemiaa tai vatsa-aortan aneurysmaa. Jaoimme potilaiden sairaudet kolmeen eri verisuonipuuston sairauteen, supra-aortaalinen puusto, CAD ja perifeerinen puusto. Tätä on taulukko 1:ssä merkitty termillä polyvascular disease. A tarkoittaa, että potilaalla on yhden puuston tauti. C:ssä taas on kyseessä kolmen, eli jokaisen, puuston tauti. Selvitimme myös oliko potilaalle tehty aiemmin rekonstruktiota.

### 3.4. Laboratoriokokeet ja lipoproteiinikonsentraatioiden arviointi

Laskimoverinäytteet otettiin potilailta vena cephalicasta. Näytteistä määritettiin triglyseridi, kokonaiskolesteroli ja HDL-C. Näytteiden analyysi suoritettiin entsymaattisesti käyttäen kliinisen kemian analysaattoria (Olympus, AU400, Hamburg, Germany). Verinäytteiden

tulokset haettiin Laboratoriokeskus Oy:n tietokannasta. LDL-C laskettiin saatuja arvoja käyttäen Friedewaldin kaavalla (57). Saaduista arvoista laskettiin myös Non-HDL-C, LDL-C:n ja HDL-C:n suhde ja kokonaiskolesterolin ja HDL-C:n suhde.

VLDL-TG, IDL-C, LDL-C, HDL2-C, apoA-1, apoB, apoB:n ja apoA-1:n suhde laskettiin uuden EFW-kaavan avulla. Näin saatiin arviot kyseisille parametreille. Tässä tutkimuksessa emme määrittäneet edellä mainituille parametreille verinäytteistä mitattuja vertailuarvoja.

### **3.5. Tilastollinen analyysi**

Analysoimme lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteyksiä kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymiseen, uusintatoimenpiteen ilmaantuvuuteen ja uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään seurannan aikana. Muodostimme kullekin päätetapahtumalle kolme eri mallia, joilla tutkimme kunkin lipidimuuttujan muista tekijöistä riippumatonta yhteyttä päätemuuttujiin. Aluksi analyysit vakioitiin iän ja sukupuolen suhteen (Model 1). Kattavampi malli sisälsi näiden lisäksi vakioinnin hypertension, diabeteksen, tupakoinnin ja hyperkolesterolemian suhteen (Model 2). Model 3:ssa vakiointi suoritettiin myös riskitekijöiden, aiemman rekonstruktion, CAD:n, neurologisen sairauden, keuhkosairauden, munuaissairauden, perifeerisen verisuonisairauden ja polyvaskulaarisairauden suhteen. Lipidimuuttujista muodostettiin standardoidut arvot, joiden keskiarvo oli nolla ja keskihajonta yksi ennen analyysien suorittamista vertailtavuuden parantamiseksi. Lipidimuuttujien ja päätetapahtumien väliset yhteydet on esitetty riskisuhteina (HR, OR, IRR) lipidimuuttujan yhtä keskihajonnan (SD) suuruista nousua kohti.

Lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteyksiä potilaiden selviytymiseen analysoitiin käyttäen Coxin regressiomallia. Tuloksina on ilmoitettu standardoiduille lipidiparametreille p-arvo, HR ja HR:n 95 %:n luottamusvälin ala- ja yläraja. Vaikutusta uusintatoimenpiteisiin analysoitiin logistisella regressiolla. Tässä HR:n sijaan on ilmoitettu OR. Vastaavasti vaikutusta uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään analysoitiin modifioidulla Poisson-regressiolla. OR:n korvasi tässä IRR. Nämä analyysit suoritettiin kaikissa

edellisessä kappaleessa mainituissa vakiointimalleissa. Kaikissa analyyseissa p-arvoa alle 0,05 pidettiin tilastollisesti merkitseväenä.

Tilastollisissa analyyseissa käytimme Windows-alustalle teyhtyä SPSS versiota 17.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois). Forest plotit muodostimme Windows-käyttöjärjestelmälle tehdyllä GraphPad versio 6,04-ohjelmalla.

## **4. TULOKSET**

### **4.1. Kaulavaltimokirurgisten potilaiden ominaispiirteet**

Taulukko 1:ssä on esitetty kyseisten potilaiden ominaispiirteet. Tässä taulukossa esitetään lipidiparametrien keskiarvot ja SD:t tässä aineistossa. TC date difference tarkoittaa päivinä ilmoitettua eroa laboratoriokokeiden ottoajankohdan ja toimenpidepäivän välillä. Tässä aineistossa sen keskiarvo oli -19,84. Tämän vaikutus tuloksiin on vähäinen.



Taulukko 1. Kaulavaltimokirurgisten potilaiden ominaispiirteet riskitekijöiden ja lipidiparametrien suhteen. A merkitsee yhden, B kahden ja C kolmen verisuonipuuston tautia.

Characteristics	Supra-aortic ischemia
N	442
Age (mean), y (SD)	69.9 (8.2)
Men, %	305 (69.0)
Hypertension, N (%)	336 (76.0)
Diabetes, N (%)	129 (29.2)
Hypercholesterolemia, N (%)	235 (53.2)
Smoking, N (%)	113 (25.6)
Risk factors, N (%)	434 (98.2)
Previous reconstruction, N (%)	57 (12.9)
CAD, N (%)	192 (43.4)
Neurologic disease, N (%)	308 (69.7)
Lung disease, N (%)	39 (8.8)
Kidney disease, N (%)	12 (2.7)
Peripheral arterial disease, N (%)	0 (0.0)
Polyvascular disease, N (%)	A: 250 (56.6), B: 192 (43.4), C: 0 (0.0)
Serum/FW-estimated (mmol/l)	
TC (mean), (SD)	4.34 (1.05)
LDL-C (mean), (SD)	2.40 (0.89)
HDL-C (mean), (SD)	1.22 (0.40)
Non-HDL-C (mean), (SD)	3.12 (1.00)
LDL-C/HDL-C (mean), (SD)	2.13 (0.99)
TC/HDL-C (mean), (SD)	3.85 (1.46)
TG (mean), (SD)	1.60 (0.91)
TC date difference (mean), days (SD)	(-)19.84 (56.19)
EFW-estimated (mmol/l)	
VLDL-TG (mean), (SD)	0.98 (0.74)
IDL-C (mean), (SD)	0.23 (0.10)
LDL-C (mean), (SD)	2.61 (0.74)
HDL2-C (mean), (SD)	0.77 (0.35)
ApoA-1 (mean), g/l (SD)	1.41 (0.26)
ApoB (mean), g/l (SD)	0.94 (0.25)
ApoB/apoA-1 (mean), (SD)	0.68 (0.20)

## 4.2. Apolipoproteiinien ja lipidiparametrien yhteys potilaiden selviytymiseen

Perinteisistä lipidiparametreista suoraan verrannollisia kuolleisuuteen nähden olivat kaikissa kolmessa vakiointimallissa non-HDL-C, kokonaiskolesterolin ja HDL-C:n suhde sekä triglyseridi (Kuva 1, 2 ja 3). Lisäksi kokonaiskolesteroli käyttäytyi tällä tavoin kolmannessa vakiointimallissa (Kuva 3) ja LDL-C:n ja HDL-C:n suhde toisessa ja

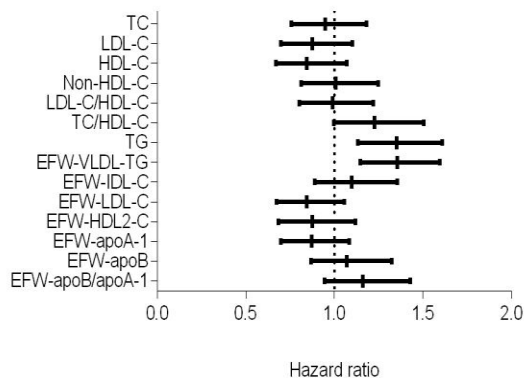
kolmannessa mallissa (Kuva 2 ja 3). Kääntäen verrannollisia kuolleisuuden suhteen olivat kaikissa kolmessa mallissa LDL-C ja HDL-C (Kuva 1, 2 ja 3). Tilastollisesti merkitsevä tulos kaikissa kolmessa mallissa saatiin ainoastaan triglyseridillä (Kuva 1, 2 ja 3). P-arvot ja HR:t jakaantuivat sen suhteen seuraavasti. Malli 1: p-arvo 0.001; HR 1.350 (1.133; 1.608). Malli 2: p-arvo 0.012; HR 1.267 (1.052; 1.525). Malli 3: p-arvo 0.011; HR 1.278 (1.057; 1.545). Lisäksi kokonaiskolesterolin ja HDL-C:n suhde oli tilastollisesti merkitsevä kolmannessa mallissa (Kuva 3), p-arvo 0.042; HR 1.248 (1.008; 1.545).

EFW-kaavalla lasketuista lipidiparametreista ja apolipoproteiineista suoraan verrannollisia kuolleisuuteen kaikissa kolmessa mallissa olivat VLDL-TG, IDL-C, apoB, apoB:n ja apoA-1:n suhde (Kuva 1, 2 ja 3). VLDL-TG:n kohdalla tulokset olivat lisäksi tilastollisesti merkitseviä (Kuva 1, 2 ja 3). P-arvot ja HR:t olivat seuraavat. Malli 1: p-arvo < 0.001; HR 1.354 (1.148; 1.596). Malli 2: p-arvo 0.007; HR 1.273 (1.067; 1.518). Malli 3: p-arvo 0.007; HR 1.282 (1.071; 1.534). Kääntäen verrannollisia kuolleisuuden suhteen kaikissa kolmessa mallissa olivat LDL-C, HDL2-C, apoA-1 (Kuva 1, 2 ja 3). Näissä ei saatu tilastollisesti merkitseviä tuloksia.

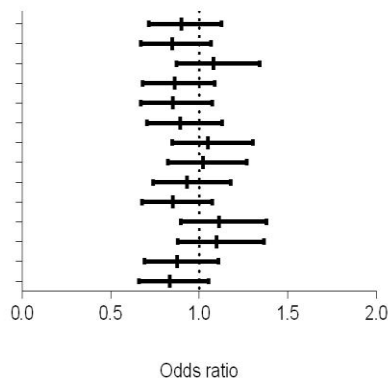
### **4.3. Apolipoproteiinien ja lipidiparametrien vaikutukset uusintatoimenpiteisiin ja niiden absoluuttiseen määrään**

Uusintatoimenpideryhmässä ei missään vakiointimallissa saatu tilastollisesti merkitseviä tuloksia. Analysoitaessa lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteyksiä uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään saatiin apoB:n ja apoA-1:n suhteen osalta tilastollisesti merkitsevä tulos vakiointimalleissa kaksi ja kolme (Kuva 2 ja 3). Tämä tosin hieman yllättäen suhtautuu kääntäen verrannollisesti uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään. Malli 2: p-arvo 0.033; IRR 0.816 (0.678; 0.983). Malli 3: p-arvo 0.031; IRR 0.819 (0.683; 0.982).

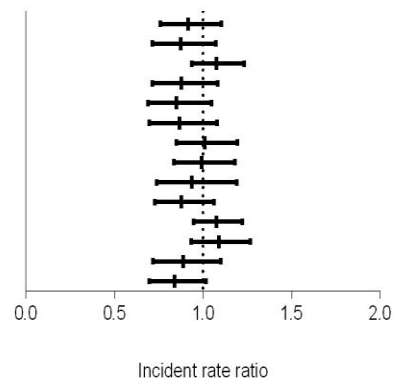
Survival, model 1, supra-aortic ischemia



Reoperations, model 1, supra-aortic ischemia

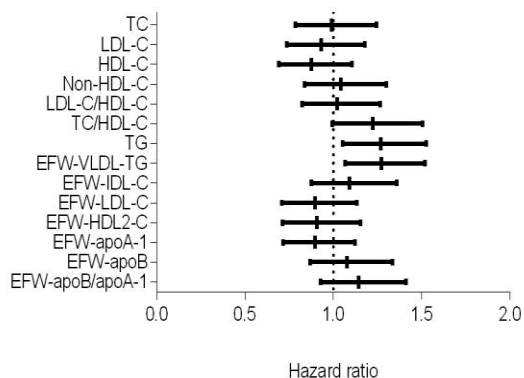


Reoperations absolute, model 1, supra-aortic ischemia

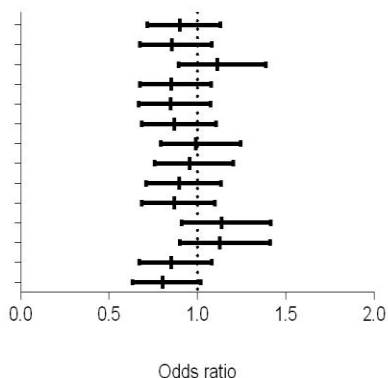


Kuva 1. Perinteisten lipidiparametrien ja EFW-kaavalla muodostettujen lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteydet potilaiden selviytymiseen, uusintatoimenpiteisiin, uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään. Model 1, vakioitu iän ja sukupuolen suhteen. Muuttujat standardoitiin ennen analyysia. Yksikkönä SD.

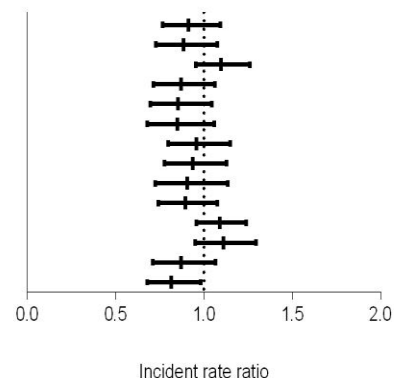
Survival, model 2, supra-aortic ischemia



Reoperations, model 2, supra-aortic ischemia

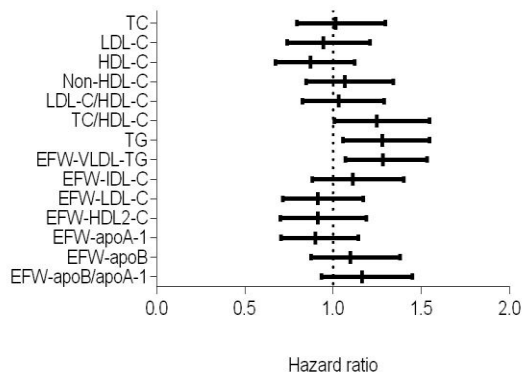


Reoperations absolute, model 2, supra-aortic ischemia

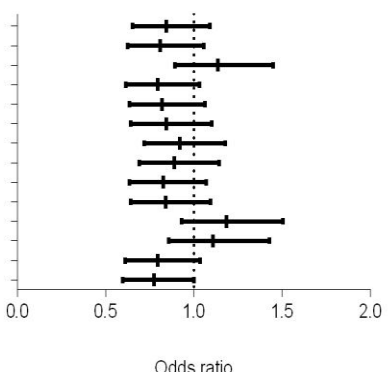


Kuva 2. Perinteisten lipidiparametrien ja EFW-kaavalla muodostettujen lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteydet potilaiden selviytymiseen, uusintatoimenpiteisiin, uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään. Model 2, vakioitu iän, sukupuolen, hypertension, diabeteksen, tupakoinnin, hyperkolesterolemian suhteen. Muuttujat standardoitiin ennen analyysia. Yksikkönä SD.

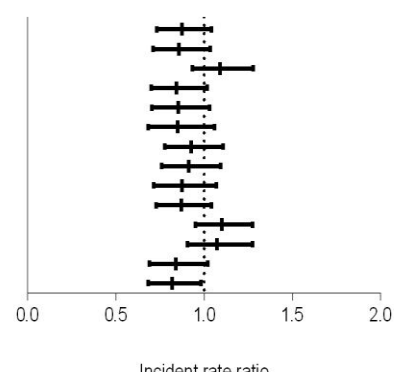
Survival, model 3, supra-aortic ischemia



Reoperations, model 3, supra-aortic ischemia



Reoperations absolute, model 3, supra-aortic ischemia



Kuva 3. Perinteisten lipidiparametrien ja EFW-kaavalla muodostettujen lipidiparametrien ja apolipoproteiinien yhteydet potilaiden selviytymiseen, uusintatoimenpiteisiin, uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään. Model 3, vakioitu iän, sukupuolen, hypertension, diabeteksen, tupakoinnin, hyperkolesterolemian, riskitekijöiden, aiemman rekonstruktion, CAD:n, neurologisen sairauden, keuhkosairauden, munuaissairauden, perifeerisen verisuonisairauden ja polyvaskulaarisairauden suhteen. Muuttujat standardoitiin ennen analyysia. Yksikkönä SD.

## 5. POHDINTA

EFW-kaavalla laskettu VLDL-TG osoittautui lupaavaksi tekijäksi arvioitaessa kaulavaltimokirurgisten potilaiden selviytymistä. Myös perinteisistä lipidimuuttujista triglyseridi oli lähes yhtä vahva kuolleisuuden ennustaja kuin VLDL-TG. Edellä esitettyjen vakiointimallien perusteella voidaan myös todeta, että molemmat tekijät ovat itsenäisiä, muista tekijöistä riippumattomia selviytymisen ennustajia. Kyseisten tekijöiden yhteys potilaiden selviytymiseen havaittiin muita tutkittuja merkkiaineita vahvemmaksi. Tosin muiden merkkiaineiden p-arvot jäivät liian suuriksi, jotta edellinen voitaisiin varmuudella todentaa paikkansapitäväksi. Kolmannessa vakiointimallissa myös kokonaiskolesterolin ja HDL:n suhde saatiin tilastollisesti merkitseväksi. Se oli hieman kahta edellä mainittua tekijää heikompi kuolleisuuden ennustaja. Mainittakoon vielä, että EFW-kaavan soveltaminen ei aiheuta lisäkustannuksia ja se on vapaasti käytettävissä (<http://www.computationalmedicine.fi/software/Lipido>) (53).

ApoB:n ja apoA-1:n suhde suhtautui hieman yllättäen kääntäen verrannollisesti uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään. Tilastollinen merkitsevyys saavutettiin vakiointimalleissa kaksi ja kolme. Aiemmin kyseisen suhteen on todettu suhtautuvan sydän- ja verisuonisairauksien kuolleisuuteen suoraan verrannollisesti (4,27). Tällä perusteella sen voisi olettaa suhtautuvan vastaavasti uusintatoimenpiteiden absoluuttiseen määrään. Ristiriitainen tulos saattaa selittyä statiini-vaikutuksen kautta. Aineiston potilaat ovat suuren riskin potilaita ja valtaosa käyttää statineja. Voidaan myös ajatella, että kyseessä olisi selektioharha. Korkean apoB-pitoisuuden omaavat potilaat ovat saattaneet jo kuolla ennen aineiston kokoamista. Potilaiden keski-ikä on lisäksi melko korkea. Vanhempana korkealla kolesterolipitoisuudella, apoB-pitoisuudella on suojaava vaikutus.

EFW-kaavalla muodostettujen lipidimuuttujien ja apolipoproteiinien vaikutusta verisuonikirurgisten, ja erityisesti kaulavaltimokirurgisten potilaiden, ennusteeseen ei tietävästi ole lainkaan aiemmin tutkittu. Voidaan kuitenkin todeta tutkimuksemme päätuloksen, eli sen että VLDL-TG ja triglyseridi assosioituvat kaulavaltimokirurgisten

potilaiden selviytymiseen, olevan linjassa aiemman tutkimushavainnon kanssa, jossa triglyseridien partikkelien (triglyseridi, VLDL, IDL) todetaan olevan yhteydessä ateroskleroottiseen verisuonisairauteen (59,60).

Olisi ollut toivottavaa, että aineisto olisi ollut potilasmäärältään suurempi. Monen muuttujan osalta tilastollinen merkitsevyys jäi saavuttamatta. Näin tapahtui lähes jokaisen muuttujan kohdalla analysoitaessa lipidimuuttujien yhteyksiä uusintatoimenpiteisiin ja niiden absoluuttisiin määriin seurannan aikana. Avoimeksi jäänee, onko VLDL-TG paras lipidimuuttuja arvioitaessa selviytymistä ja assioituvatko lipidimuuttajat uusintatoimenpiteisiin. Näiden kysymysten selvittäminen edellyttää lisätutkimuksia. Aineistomme potilaat olivat melko vanhoja. Lisäksi moni käytti statiineja ja lähes kaikilla oli jokin riskitekijä. Näillä tekijöillä saattaa olla vaikutusta tuloksiin. Toisaalta kaulavaltimokirurgiset, ja yleensäkin verisuonikirurgiset, potilaat ovat perusväestöä sairaampia ja iäkkäämpiä henkilöitä. Net reclassification improvement (NRI)-analyysija, joilla voidaan arvioida uuden luokittelumuuttujan lisäarvoa, ei tässä tutkimuksessa toteutettu. Tämän avulla lipidiparametrien yhteyksien vahvuuksia selviytymiseen ja toisaalta parametrien vahvuusjärjestystä oltaisi voitu paremmin havainnollistaa.

Tällä hetkellä uudet lipidiparametrit ovat kliinisessä käytössä vain Kanadassa, jonka dyslipidemian hoitosuosituksessa apoB:n tavoitepitoisuudeksi on asetettu alle 0.8 g/l (61). Tietävästi kaulavaltimokirurgisten potilaiden riskinarvioon kyseisiä parametreja ei tällä hetkellä hyödynnetä vielä missään maassa. Tutkimuksemme kuitenkin osoittaa, että EFW-VLDL-TG soveltuu kyseisen potilasryhmän selviytymisen arviointiin lipidiparametreista parhaiten. Se on riippumaton muista riskitekijöistä, eikä sen hyödyntäminen aiheuta lisäkustannuksia. Sen soveltaminen kliiniseen käytäntöön vaikuttaisi siten perustellulta. Tarvitaan kuitenkin lisäanalyysija, jotta sille löydetään käyttökelpoiset, potilaita parhaiten hyödyttävät, raja-arvot. Tällä tavoin on mahdollista parantaa leikkauksesta hyötävien potilaiden tunnistettavuutta. Jatkossa tavoitteenamme on myös tutkia, eroaako lipidiparametreihin kohdistuva sisätautinen interventio vaikuttavuudeltaan kaulavaltimokirurgiseen toimenpiteeseen nähden. Pyrimme siis selvittämään, saako potilas lisähyötyä toimenpiteestä, vai onko hoitotulos vastaava kuin lääkkeitä käytettäessä.

# LÄHTEET

- (1) Hodis HN, Mack WJ, Dunn M, et al. Intermediate-density lipoproteins and progression of carotid arterial wall intima-media thickness. *Circulation*. 1997;95(8):2022-2026.
- (2) Phillips NR, Waters D, Havel RJ. Plasma lipoproteins and progression of coronary artery disease evaluated by angiography and clinical events. *Circulation*. 1993;88(6):2762-2770.
- (3) Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B low apolipoprotein A-I and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet*. 2001;358(9298):2026-2033.
- (4) Mudd JO, Borlaug BA, Johnston PV, et al. Beyond low-density lipoprotein cholesterol: defining the role of low-density lipoprotein heterogeneity in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(18):1735-1741.
- (5) Pischon T, Girman CJ, Sacks FM, Rifai N, Stampfer MJ, Rimm EB. Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. *Circulation*. 2005;112(22):3375-3383.
- (6) St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, et al. Low-density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(3):553-559.
- (7) Clark A. Metabolism and nutrition. In: Roach JO, editor. *Crash course*. 1st ed. Philadelphia Pa. ; Edinburgh: Elsevier Saunders; 2006. p. 73-76.
- (8) Warnick GR, Myers GL, Cooper GR, Rifai N. Impact of the third cholesterol report from the adult treatment panel of the national cholesterol education program on the clinical laboratory. *Clin Chem*. 2002;48(1):11-17.
- (9) Sazonov V, Beetsch J, Phatak H, Wentworth C, Evans M. Association between dyslipidemia and vascular events in patients treated with statins: report from the UK General Practice Research Database. *Atherosclerosis*. 2010;208(1):210-216.
- (10) Lim S, Park YM, Sakuma I, Koh KK. How to control residual cardiovascular risk despite statin treatment: focusing on HDL-cholesterol. *Int J Cardiol*. 2013;166(1):8-14.
- (11) Jeyarajah EJ, Cromwell WC, Otvos JD. Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Lab Med*. 2006;26(4):847-870.
- (12) Teng B, Thompson GR, Sniderman AD, Forte TM, Krauss RM, Kwiterovich PO Jr. Composition and distribution of low density lipoprotein fractions in hyperapobetalipoproteinemia, normolipidemia, and familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983;80(21):6662-6666.

- (13) Otvos J. Measurement of triglyceride-rich lipoproteins by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Cardiol.* 1999;22(S2):21-27.
- (14) Pradhan A. Obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: inflammatory basis of glucose metabolic disorders. *Nutr Rev.* 2007;65(S3):S152-S156.
- (15) Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Comparison of LDL cholesterol concentrations by Friedewald calculation and direct measurement in relation to cardiovascular events in 27, 331 women. *Clin Chem.* 2009;55(5):888-894.
- (16) Majeed F, Miller M. Low high-density lipoprotein cholesterol: an important consideration in coronary heart disease risk assessment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2008;15(2):175-181.
- (17) Bruckert E, Hansel B. HDL-c is a powerful lipid predictor of cardiovascular diseases. *Int J Clin Pract.* 2007;61(11):1905-1913.
- (18) Morgan J, Carey C, Lincoff A, Capuzzi D. High-density lipoprotein subfractions and risk of coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2004;6(5):359-365.
- (19) Salonen JT, Salonen R, Seppänen K, Rauramaa R, Tuomilehto J. HDL, HDL2, and HDL3 Subfractions, and the Risk of Acute Myocardial Infarction: A Prospective Population Study in Eastern Finnish Men. *Circulation.* 1991;84(1):129-139.
- (20) Rosenson RS, Otvos JD, Freedman DS. Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial. *Am J Cardiol.* 2002;90(2):89-94.
- (21) Wang DX, Liu H, Yan LR, Zhang YP, Guan XY, Xu ZM, et al. The relationship between serum amyloid A and apolipoprotein A-I in high-density lipoprotein isolated from patients with coronary heart disease. *Chinese Medical Journal (English Edition).* 2013;126(19):3656-3661.
- (22) Chen G, Liu L, Xie S, Liu H, Liu Y, Li Y. High-density lipoprotein associated factors apoA-I and serum amyloid A in Chinese non-diabetic patients with coronary heart disease. *Chinese Medical Journal (English Edition).* 2010;123(6):658-663.
- (23) Malle E, Steinmetz A, Raynes JG. Serum amyloid A (SAA): an acute phase protein and apolipoprotein. *Atherosclerosis.* 1993;102(2):131-146.
- (24) Cabana VG, Feng N, Reardon CA, Lukens J, Webb NR, de Beer FC, et al. Influence of apoA-I and apoE on the formation of serum amyloid A-containing lipoproteins in vivo and in vitro. *J Lipid Res.* 2004;45(2):317-325.
- (25) Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ, et al. Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Quebec cardiovascular study. *Circulation.* 1996;94(3):273-278.
- (26) Gotto AMJr, Whitney E, Stein EA, et al. Relation between baseline and on-treatment lipid parameters and first acute major coronary events in the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). *Circulation.* 2000;101(5):477-484.

- (27) McQueen MJ, Hawken S, Wang X, et al. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. *Lancet*. 2008;372(9634):224-233.
- (28) Juonala M, Viikari JS, Kähönen M, et al. Childhood levels of serum apolipoproteins B and A-I predict carotid intima-media thickness and brachial endothelial function in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(4):293-299.
- (29) European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*. 2011;32(14):1769-1818.
- (30) Sondermeijer BM, Rana JS, Arsenault BJ, Shah PK, Kastelein JJP, Wareham NJ, et al. Non-HDL cholesterol vs. Apo B for risk of coronary heart disease in healthy individuals: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur J Clin Invest*. 2013;43(10):1009-1015.
- (31) Masuda D, Sugimoto T, Tsujii K, Inagaki M, Nakatani K, Yuasa-Kawase M, et al. Correlation of fasting serum apolipoprotein B-48 with coronary artery disease prevalence. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(9):992-999.
- (32) Alipour A, Valdivielso P, Elte JWF, Janssen HW, Rioja J, van der Meulen N, et al. Exploring the value of apoB48 as a marker for atherosclerosis in clinical practice. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(7):702-708.
- (33) Pal S, Semorine K, Watts GF, Mamo J. Identification of lipoproteins of intestinal origin in human atherosclerotic plaque. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41(6):792-795.
- (34) Nakano T, Nakajima K, Niimi M, Fujita MQ, Nakajima Y, Takeichi S, et al. Detection of apolipoproteins B-48 and B-100 carrying particles in lipoprotein fractions extracted from human aortic atherosclerotic plaques in sudden cardiac death cases. *Clin Chim Acta*. 2008;390(1-2):38-43.
- (35) Vazquez-Figueroa JG, Rinehart S, McCree A, Teramoto T, Matsushima T, Kinoshita M, et al. Abstract 16886: First Quantification of Intestinal-apoB48 and Hepatic-apoB100 Particles in Human Atherosclerotic Plaque by Dual Immunofluorescence Staining. *Circulation*. 2010;122(S1).
- (36) Shai I, Rimm EB, Hankinson SE, Curhan G, Manson JE, Rifai N, et al. Multivariate assessment of lipid parameters as predictors of coronary heart disease among postmenopausal women: potential implications for clinical guidelines. *Circulation*. 2004;110(18):2824-2830.
- (37) Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA*. 2005;294(3):326-333.
- (38) Shen H, Damcott CM, Rampersaud E, Pollin TI, Horenstein RB, McArdle PF, et al. Familial Defective Apolipoprotein B-100 and Increased Low-Density Lipoprotein



Cholesterol and Coronary Artery Calcification in the Old Order Amish. *Arch Intern Med*. 2010;170(20):1850-1855.

(39) Mamo JC, Watts GF, Barrett PH, Smith D, James AP, Pal S. Postprandial dyslipidemia in men with visceral obesity: an effect of reduced LDL receptor expression? *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;281(3):E626-32.

(40) Phillips C, Murugasu G, Owens D, Collins P, Johnson A, Tomkin GH. Improved metabolic control reduces the number of postprandial apolipoprotein B-48-containing particles in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2000;148(2):283-291.

(41) Chan DC, Watts GF, Barrett PH, Mamo JC, Redgrave TG. Markers of triglyceride-rich lipoprotein remnant metabolism in visceral obesity. *Clin Chem*. 2002;48(2):278-283.

(42) Cabezas MC, Erkelens DW. Triglycerides and atherosclerosis: to feast or fast. [Review] [84 refs]. *Neth J Med*. 2000;56(3):110-118.

(43) Haidari M, Leung N, Mahbub F, Uffelman KD, Kohen-Avramoglu R, Lewis GF, et al. Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance. Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction. *J Biol Chem*. 2002;277(35):31646-31655.

(44) Hogue JC, Lamarche B, Tremblay AJ, Bergeron J, Gagne C, Couture P. Evidence of increased secretion of apolipoprotein B-48-containing lipoproteins in subjects with type 2 diabetes. *J Lipid Res*. 2007;48(6):1336-1342.

(45) Wang Y, Lobstein T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes*. 2006;1(1):11-25.

(46) Raitakari OT, Juonala M, Viikari JS. Obesity in childhood and vascular changes in adulthood: insights into the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29(Suppl. 2):S101-S104.

(47) Falaschetti E, Hingorani A, Jones A, Charakida M, Finer N, Whincup P, et al. Adiposity and cardiovascular risk factors in a large contemporary population of pre-pubertal children. *Eur Heart J*. 2010;31(24):3063-3072.

(48) Higgins PB, Gower BA, Hunter GR, Goran MI. Defining health-related obesity in prepubertal children. *Obes Res*. 2001;9(4):233-240.

(49) Wang Y, Pendlebury C, Dodd MMU, Maximova K, Vine DF, Jetha MM, et al. Elevated remnant lipoproteins may increase subclinical CVD risk in pre-pubertal children with obesity: a case-control study. *Pediatric Obesity*. 2013;8(5):376-384.

(50) Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res*. 1995;36(2):211-228.

(51) Brufau G, Groen AK, Kuipers F. Reverse cholesterol transport revisited: contribution of biliary versus intestinal cholesterol excretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(8):1726-1733.

- (52) Luc G, Bard JM, Ferrieres J, et al. Value of HDL cholesterol, apolipoprotein A-I lipoprotein A-I and lipoprotein A-I/A-II in prediction of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(7):1155-1161.
- (53) Niemi J, Mäkinen VP, Heikkonen J, et al. Estimation of VLDL IDL LDL HDL(2), apoA-I and apoB from the Friedewald inputs-apoB and IDL but not LDL. *Ann Med.* 2009;41(6):451-461.
- (54) Choe YG, Jin W, Cho YK, Chung WG, Kim HJ, Jeon WK, et al. Apolipoprotein B/AI ratio is independently associated with non-alcoholic fatty liver disease in nondiabetic subjects. *Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2013;28(4):678-683.
- (55) Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K.,K.S. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2002;35(4):898-904.
- (56) Ouguerram K, Zair Y, Kasbi-Chadli F, Nazih H, Bligny D, Schmitz J, et al. Low Rate of Production of Apolipoproteins B100 and AI in 2 Patients With Anderson Disease (Chylomicron Retention Disease). *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology.* 2012;32(6):1520-1525.
- (57) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
- (58) Tremblay AJ, Morrisette H, Gagne JM, Bergeron J, Gagne C, Couture P. Validation of the Friedewald formula for the determination of low-density lipoprotein cholesterol compared with beta-quantification in a large population. *Clin Biochem.* 2004;37(9):785-790.
- (59) Sarwar N, Sandhu MS, Ricketts SL, et al. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet.* 2010;375(9726):1634-1639.
- (60) Talayero BG, Sacks FM. The role of triglycerides in atherosclerosis. *Curr Cardiol Rep.* 2011;13(6):544-552.
- (61) Genest J, McPherson R, Frohlich J, et al. 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult - 2009 recommendations. *Can J Cardiol.* 2009;25(10):567-579.